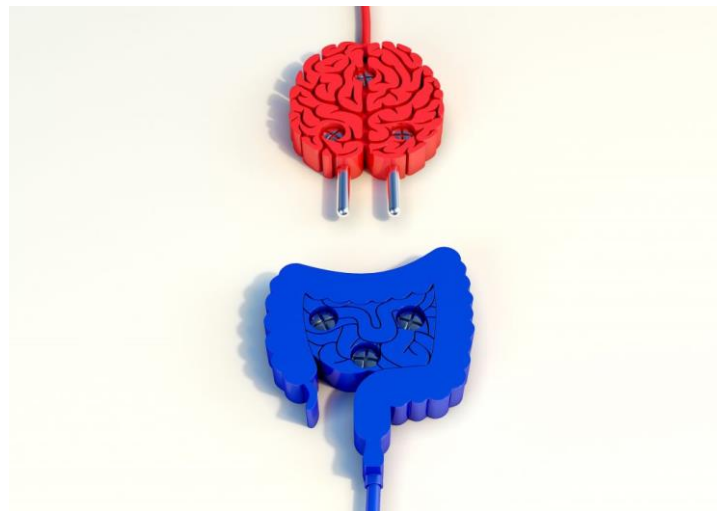


## **Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad**

Disbiosis bacteriana y alteraciones del estado de ánimo

### **Role of the intestinal flora in health and disease**

Bacterial disbiosis and mood disturbances



Laura Rodríguez Rodríguez  
Trabajo de Fin de Grado. Grado en Biología.  
Salamanca, Junio de 2020

## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| 1. RESUMEN   |    |
| 2. OBJETIVOS .....   | 1  |
| 3. INTRODUCCIÓN .....  | 1  |
| 3.1. La microbiota intestinal en la salud y en la enfermedad ..... | 1  |
| 3.2. Composición de la flora intestinal .....                      | 2  |
| 3.3. Distribución de la microbiota .....                           | 3  |
| 3.4. Evolución de la flora intestinal durante la vida .....        | 5  |
| 3.5. Funciones de la microbiota.....                               | 8  |
| 3.6. Alteraciones de la microbiota intestinal .....                | 11 |
| 4. METODOLOGÍA .....   | 11 |
| 5. RESULTADOS.....   | 12 |
| 5.1. Disbiosis y alteraciones del estado de ánimo .....            | 12 |
| 5.2. Eje intestino-cerebro.....                                    | 14 |
| 5.3. La serotonina: Generalidades .....                            | 15 |
| 5.4. La influencia de la microbiota sobre la serotonina.....       | 17 |
| 5.5. Perspectivas terapéuticas .....                               | 22 |
| 5.5.1. Psicobióticos .....   | 23 |
| 5.5.2. Trasplante fecal.....                                       | 26 |
| 6. CONCLUSIONES .....  | 27 |
| 7. BIBLIOGRAFÍA .....  | 28 |

## **1. RESUMEN**

La importancia de la microbiota intestinal en el mantenimiento de la salud y en la etiología de múltiples enfermedades ha sido más que demostrada en los últimos años. Por eso, en este trabajo se explicara su composición y funciones, la importancia del mantenimiento de la homeostasis, de qué manera las alteraciones microbianas están implicadas en enfermedades neuropsiquiátricas como ansiedad y depresión y todos los posibles mecanismos subyacentes por los que la microbiota influye en la salud mental. Concretamente, este trabajo se centra en el papel clave que ejerce la microbiota regulando el sistema serotoninérgico, que es fundamental en la comunicación bidireccional entre el intestino y el cerebro, y además está implicado en la modulación el estado de ánimo. Por último, debido a la importancia del equilibrio de la composición microbiana para conservar la salud, entre las posibles estrategias terapéuticas se encuentra la modificación de esta mediante el uso de probióticos y prebióticos, mejoras de la dieta y trasplantes fecales.

## **ABSTRACT**

The importance of the gut microbiota in maintaining health and in the etiology of multiple diseases has been more than demonstrated in recent years. For this reason, this work will explain its composition and functions, the importance of maintaining homeostasis, how microbial disorders are implicated in neuropsychiatric diseases such as anxiety and depression and all the possible underlying mechanisms by which the microbiota influences mental health. Specifically, this work focuses on the key role that the microbiota plays in regulating the serotonergic system, which is essential in bidirectional communication between the intestine and the brain, and is also involved in modulating mood. Finally, due to the importance of balancing the microbial composition to preserve health, among the possible therapeutic strategies is its modification through the use of probiotics and prebiotics, diet improvements and faecal transplants.

## 2. OBJETIVOS

Este TFG bibliográfico tiene como principal objetivo entender la relación entre la microbiota y la salud mental, para comprender como la disbiosis intestinal puede modular el estado de ánimo y conducir a enfermedades psiquiátricas como ansiedad y depresión.

Entre los objetivos específicos destacan:

- Conocer en mayor profundidad conceptos generales de la microbiota intestinal: composición, distribución, evolución a lo largo de la vida y funciones.
- Entender los mecanismos subyacentes por los cuales la microbiota modifica el estado de ánimo.
- Comprender como la modificación de la diversidad de la microbiota podría ser de utilidad en el tratamiento de estas enfermedades.

## 3. INTRODUCCIÓN

### 3.1. La microbiota intestinal en la salud y en la enfermedad

Los seres humanos, al igual que otros organismos pluricelulares, vivimos en simbiosis con otras especies biológicas, y dicha relación conlleva beneficios para al menos una de las especies implicadas sin causar perjuicios a las otras partes. Concretamente, el cuerpo humano está habitado por un gran número de bacterias, virus, arqueas y eucariotas unicelulares que se desarrollan en íntima asociación con el anfitrión, y a estos microorganismos se hace referencia colectivamente como flora normal, microflora o microbiota.<sup>11, 45</sup>

La microbiota es capaz de colonizar cualquier superficie del cuerpo que esté expuesta, como la piel o los tractos genitourinario, respiratorio y gastrointestinal. Este último concretamente es el más colonizado y, de hecho, solo en el colon se encuentran más del 70% de todos los microorganismos que habitan el cuerpo humano. Esto es debido principalmente a dos motivos: a que presenta una grandísima superficie de unos 200 m<sup>2</sup> y que allí los microorganismos pueden encontrar muchas moléculas que les servirán de nutrientes.<sup>28</sup> La microbiota gastrointestinal incluye unos 100 billones de bacterias, una cantidad muy superior al total de todas nuestras células somáticas y germinales, que se encuentran en proporción 10<sup>13</sup> : 10<sup>14</sup> respecto a la microflora.<sup>11</sup>

Hoy en día estos cientos de billones de bacterias han sido considerados como un “nuevo órgano” cuya composición y funciones son fundamentales, aunque no vitales, para el mantenimiento de la salud debido a que estas afectan al metabolismo del hospedador y por lo tanto, al desarrollo de enfermedades.

En condiciones normales, el ecosistema microbiano se encuentra en equilibrio, pero a veces se puede producir una disbiosis, que es la ruptura de la homeostasis, cuyo origen puede ser una excesiva variación en la diversidad o el establecimiento de determinadas especies microbianas en regiones no habituales. Por consiguiente, un desbalance microbiano podría ser un factor subyacente importante que contribuye a una variedad de enfermedades tanto dentro como fuera del intestino.<sup>25</sup> Esto explica el creciente interés por la microbiota intestinal dentro de la comunidad científica en los últimos años.

### **3.2. Composición de la flora intestinal**

Se hace referencia a los microorganismos que viven en nuestro intestino como microbiota intestinal. Toda esta población microbiana pesa alrededor de 1 kilo y constituye un ecosistema de gran complejidad.<sup>38</sup> Esta comunidad está compuesta por un vasto número de bacterias, arqueas, virus y microorganismos eucarióticos. Normalmente se estiman entre 500 y 1000 especies diferentes, sin embargo, durante la última década, los estudios de ecología molecular basados en comparación de secuencias del RNA ribosómico han revelado que a través de los estudios dependientes de cultivo solo se había podido acceder a una pequeña fracción de bacterias que habitan el intestino. Fue la aplicación de estas técnicas moleculares la que reveló que la microbiota es mucho más compleja de lo que se creía, y que solo entre el 20 y el 46% de las bacterias podían ser cultivadas.<sup>39</sup> Por ello, se estima que la diversidad microbiana es muchísimo más amplia, pudiendo llegar hasta las 35000 las especies diferentes que colonizan este entorno.<sup>21, 45</sup>

De todos los microorganismos que forman la flora intestinal destacan por su abundancia las bacterias, que constituyen el 99% de toda la diversidad. La mayoría de estas bacterias tienen un metabolismo anaerobio estricto.<sup>16</sup> De todos los filos que es posible encontrar, destacan especialmente cuatro por encima del resto:

- Firmicutes: los géneros más representativos son *Lactobacillus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Eubacterium*, *Ruminococcus*, *Peptostreptococcus*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterococcus*. Mayoritariamente Gram-positivas.
- Bacteroidetes: las especies más abundantes son *Bacteroides* y *Prevotella*. Bacterias Gram-negativas.
- Actinobacterias: su género más relevante es *Bifidobacterium*. Bacterias Gram-positivas.
- Proteobacterias: entre las que prevalece *Escherichia* y otras especies de la familia *Enterobacteriaceae*. Se trata de bacterias Gram-negativas.

Además de estos cuatro filos también podemos destacar otros menos abundantes como Verrucomicrobia, Fusobacteria, y Cyanobacteria. Sin embargo, los más abundantes son Firmicutes y Bacteroidetes, ya que representan el 90% del ecosistema intestinal.<sup>24, 39, 38</sup>

Además de bacterias, la flora intestinal está formada por otros microorganismos minoritarios como las arqueas, con un importante papel en la digestión de polisacáridos, ya que consumen los productos finales de la fermentación bacteriana para producir metano. Podemos destacar a la arquea metanógena de la especie *Methanobrevibacter smithii*, que facilita la fermentación de otras bacterias al consumir el hidrógeno molecular y reducir la acidez en algunas partes del intestino.<sup>25, 39</sup>

En estudios recientes también se ha observado la presencia de eucariotas en la flora intestinal, a pesar de no ser un grupo ni diverso ni abundante en el intestino. Destaca la presencia de hongos filamentosos (*Aspergillus* y *Penicillium*), de levaduras (*Saccharomyces*, *Candida*, *Malassezia* y *Pichia*) y de protozoos (*Blastocystis*).<sup>28</sup>

Además, en los últimos estudios se hallaron más de 1200 genotipos virales en muestras fecales humanas y, por tanto, estas entidades biológicas también representan una parte importante de nuestra microbiota intestinal.<sup>39</sup>

### 3.3. Distribución de la microbiota

La microbiota intestinal no es homogénea, sino que muestra una continuidad desde el esófago hasta el recto en cuanto al número de microorganismos y a su diversidad.<sup>45</sup> Los principales factores limitantes para el establecimiento de la microflora en los diferentes tramos del tracto gastrointestinal son los movimientos peristálticos, las secreciones, el pH intestinal y la respuesta

inmune del hospedador. Por ello, las comunidades microbianas aumentan en cantidad y variabilidad a medida que se avanza por el intestino (Figura 1).<sup>11, 16</sup>

En el estómago podemos encontrar especies resistentes al pH ácido como *Helicobacter* y *Lactobacillus*, en unas cantidades desde  $10^1$  hasta  $10^3$  bacterias por gramo.<sup>24, 46</sup>

En el intestino delgado también existen secreciones ácidas pancreáticas y biliares, así como actividad motora, por lo que las bacterias deben adherirse firmemente a la mucosa epitelial. Destacan *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterias*, *Bacteroides* y *Fusobacterias*. Con una cantidad de  $10^4$  a  $10^7$  bacterias/gramo.<sup>11</sup>

Por último, en el intestino grueso aparece una mayor concentración microbiana (hasta  $10^{12}$  bacterias/gramo) y con una elevada diversidad debido a las condiciones favorables para la colonización que presenta, como tránsito lento o abundancia de nutrientes. Destacan *Bacteroidetes*, *Eubacterium*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus* y *Ruminococcus*.<sup>11</sup>

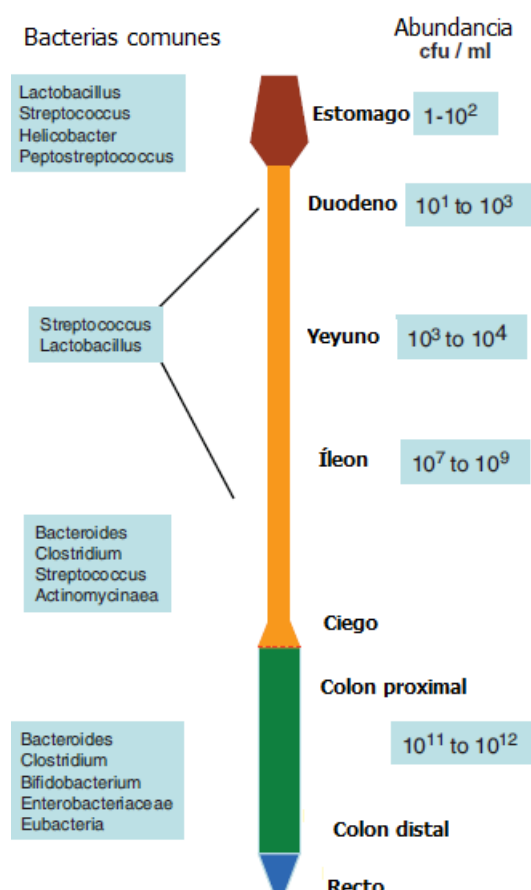


Figura 1. Distribución de la microbiota gastrointestinal

Tomado de Korecka, 2012

Además de estas variaciones en la distribución que aparecen longitudinalmente, también existen diferencias axiales, es decir, desde el lumen hasta la superficie mucosa del intestino. Mientras en el lumen la microbiota está formada principalmente por *Bacteroides*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Enterobacteriaceae*, *Enterococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus* y *Ruminococcus*, en la mucosa son más frecuentes *Clostridium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Akkermansia*.<sup>24</sup>

### 3.4. Evolución de la flora intestinal durante la vida

El establecimiento de la microbiota en el tracto gastrointestinal es un proceso progresivo necesario para el correcto desarrollo del individuo, que va a depender de multitud de factores como las condiciones de nacimiento, la dieta, la composición de la microbiota materna, la genética, el entorno o el uso de antibióticos (u otro tipo de fármacos).<sup>11, 31, 37</sup>

En los recién nacidos afectan especialmente a la composición de la microbiota el tipo de parto y la dieta. El primer contacto que el ser humano tiene con la microbiota se produce en las últimas fases del periodo intrauterino, debido a que el cuerpo de la embarazada sufre una serie de cambios que permiten que pequeñas cantidades de bacterias intestinales pasen a la placenta y, de esta forma, que el sistema inmune del feto pueda preparar una respuesta de tolerancia al estar expuesto a las bacterias que poblarán su tracto gastrointestinal al nacer.<sup>38</sup>

Si el parto se produce por el canal vaginal, el bebé será colonizado por la microbiota vaginal y perianal materna que entran a través de la boca y la nariz hasta llegar al estómago. En la microflora inicial se encuentran, sobre todo, bacterias anaerobias facultativas como Coliformes y *Streptococcus* que, debido a su metabolismo crean un ambiente reductor mediante el consumo de oxígeno, favoreciendo el establecimiento de bacterias anaerobias como bifidobacterias que se convierten en las más abundantes tras la primera semana de vida.<sup>11, 16</sup> Sin embargo, cuando el parto se produce por cesárea la colonización dependerá principalmente del entorno, por tanto, abundarán especialmente bacterias similares a las de la piel de la madre como *Streptococcus* y *Staphylococcus*.<sup>38</sup> Debido a esto, habrá una menor diversidad, menor proporción de anaerobios estrictos como *Bacteroides* y un retraso en el establecimiento de la flora normal.<sup>11</sup> Estas diferencias encontradas en los partos por cesárea no se sabe si son exclusivamente debidas al propio parto o también a la administración de antibiótico en las horas previas.<sup>19</sup>

Otro factor determinante en la diversidad y composición de la microbiota intestinal en recién nacidos es el tipo de alimentación. La leche materna, además de ser clave en el proceso de



tolerancia del sistema inmune del bebé, aporta microbiota e hidratos de carbono complejos, los cuales favorecen el desarrollo de bifidobacterias, que son las bacterias dominantes en los recién nacidos alimentados de este modo.<sup>37, 38</sup> En la especie humana, las bifidobacterias se encuentran entre los primeros colonizadores del tracto intestinal, donde se mantienen durante toda la vida, disminuyendo su cantidad con la edad. En lactantes alimentados con leche materna, son el grupo más representado de la microbiota intestinal (hasta el 90%), con dos especies predominantes, *Bifidobacterium infantis* y *Bifidobacterium breve*. En lactantes alimentados con leche de fórmula (“maternizadas”) esta población es considerablemente más baja, con *Bifidobacterium longum* como especie más representada y, adicionalmente, la flora es más compleja, con proporciones similares de *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Clostridium*, *Lactobacillus*, Coliformes y *Bacteroides*.<sup>11,16, 37</sup>

La razón de esta diferencia dependiente del tipo de alimentación está en la especial composición de la leche materna humana, en lo relativo a un conjunto de oligosacáridos que se conocen con el nombre genérico de “ginolactosa”. Estos oligosacáridos, a los que también se les conoce como HMOs (de “*Human Milk Oligosaccharides*”), poseen un tamaño máximo de aproximadamente 15 unidades, y se sintetizan en las glándulas mamarias a partir del disacárido mayoritario de la leche, la lactosa, a la que se unen otras unidades de monosacáridos (glucosa, galactosa, N-acetil-glucosamina, fucosa y ácidos siálicos), dando lugar a una gran diversidad de estructuras (descritas alrededor de 200 distintas). La genética materna influye en el perfil de los HMOs de la leche producida y, por lo general, cada leche lleva alrededor de 50 HMOs distintos. El contenido total de HMOs va disminuyendo en la leche materna a lo largo de la lactancia.<sup>6</sup>

Los HMOs no parecen tener propiedades nutritivas para el lactante, pero poseen un efecto estimulador específico para el crecimiento de las bifidobacterias, funcionando como prebióticos en los primeros meses, cuando se desarrolla la microbiota intestinal normal. La secuenciación del genoma de *Bifidobacterium longum* ha puesto de manifiesto la existencia de muchos genes que codifican para proteínas implicadas en el catabolismo de oligosacáridos, apoyando esta idea de un efecto estimulador positivo (“prebiótico”) para favorecer específicamente el desarrollo de las bifidobacterias.

Ninguna de las leches de los otros mamíferos contiene la cantidad o diversidad de estructuras moleculares de los HMOs de la leche humana. En los animales cuya leche es utilizada en la alimentación humana, las concentraciones de oligosacáridos son 100 a 1000 veces inferiores y con mucha menor diversidad de estructuras, careciendo del nivel de efectos funcionales de la leche

materna. De ahí, la importancia de la lactancia materna en la alimentación durante los primeros meses de vida para el desarrollo de una flora bifidogénica.

El microbioma gastrointestinal comienza a estabilizarse aproximadamente a los tres años de vida y se va pareciendo cada vez más al del adulto, incrementando la riqueza, diversidad y complejidad, aunque al encontrarse en un equilibrio dinámico, puede variar entre individuos según su dieta, salud, genética, edad, estrés o medicamentos.<sup>11, 37</sup>

En el adulto, la microbiota, en general, está dominada por Bacteroidetes y Firmicutes. Además, disminuyen los niveles de *Bifidobacterium*, Coliformes y *Streptococcus*.<sup>11, 31, 37</sup>

En los ancianos esta diversidad disminuye y se vuelve más dinámica, aumentan Bacteroidetes (aunque no hay unanimidad al respecto), disminuyen Firmicutes y Bifidobacterias y también aumentan patógenos potenciales como *Clostridium difficile* y anaerobios facultativos como las Proteobacterias (la mayoría son patógenos oportunistas).<sup>11, 31, 37, 40</sup>

En resumen, la flora intestinal difiere, según las etapas de la vida, en diversidad, composición y funciones, con el fin de adaptarse a las necesidades fisiológicas de cada momento (Figura 2).<sup>38</sup>

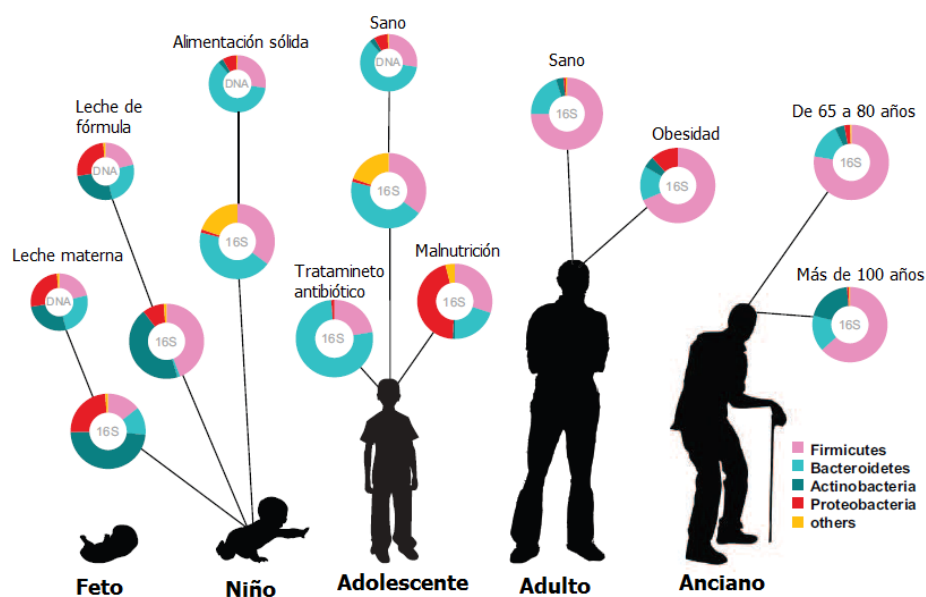


Figura 2. Cambios en la composición de la microbiota en las diferentes etapas de la vida

Tomada de Ottman, 2012

### 3.5. Funciones de la microbiota

La microbiota proporciona una serie de funciones necesarias para su simbionte entre las que destacan cuatro:

➤ Función de nutrición y metabolismo

La gran cantidad de bacterias que constituyen la microbiota aportan genes que proporcionan multitud de recursos útiles como enzimas y vías bioquímicas para la metabolización de glúcidos, proteínas y lípidos, principalmente.<sup>11, 21</sup>

Una de las funciones más importante en las que participa la microbiota es la fermentación anaerobia de hidratos de carbono no digeribles de la fibra dietética, que genera azúcares simples, ácidos grasos de cadena corta (SCFAs; del inglés “*Short Chain Fatty Acids*”), etanol, gases y una bajada de pH. Los SCFAs producidos en la fermentación (acetato, propionato y butirato) son fuentes de energía tanto para la microbiota como para el huésped, tienen efectos antiinflamatorios al inhibir ciertas citoquinas y, además, promueven la integridad de las uniones celulares en la mucosa del colon. El propionato se consume en tejidos periféricos y en el hígado, en este último reduce los niveles de colesterol sérico y glucosa. El acetato, que es el más abundante de todos los SCFAs, es un metabolito esencial para el crecimiento bacteriano y, además, se emplea en el metabolismo del colesterol y en la lipogénesis. Mientras el ácido butírico es la principal fuente de energía de los colonocitos, previene la acumulación de subproductos tóxicos como el D-lactato y, además, está relacionado con la reversión de células neoplásicas.<sup>11, 14, 21, 24, 42</sup>

También participan en la degradación de proteínas y péptidos, un proceso anaerobio mediante el cual se producen principalmente SCFAs, además de otros productos secundarios potencialmente tóxicos como aminas, amonio, fenoles, tioles e indoles.<sup>11, 21</sup>

Además, la microbiota está implicada en el metabolismo de lípidos, ya que participa en su almacenamiento, regula la lipogénesis, la oxidación de ácidos grasos y regula su absorción, ya que es capaz de suprimir la inhibición de la lipoproteína lipasa, la cual promueve la acumulación de los ácidos grasos en los adipocitos.<sup>14, 45</sup>

La presencia de la flora bacteriana en el intestino también favorece la absorción de iones (Ca, Mg, Fe, Cu, Zn), la producción de vitaminas (K, B<sub>6</sub>, B<sub>12</sub>, tiamina, biotina, ácido fólico, ácido nicotínico y ácido pantoténico), la recircularización de ácidos biliares y la síntesis de aminoácidos a partir del amoníaco o de la urea, los cuales son utilizados para producir moléculas de señalización y

péptidos antimicrobianos, como bacteriocinas, y la biotransformación de compuestos fenólicos, que proporcionan una multitud de efectos metabólicos.<sup>21, 24, 43, 45</sup>

#### ➤ Función protectora

La microbiota intestinal protege al intestino de la invasión por patógenos de diversas maneras. La más destacada es el llamado “efecto barrera”, que se basa en la capacidad que tienen las bacterias comensales, sus componentes estructurales o los productos de su metabolismo para impedir la implantación de bacterias extrañas y el sobrecrecimiento de bacterias oportunistas ya presentes en el intestino, manteniendo así la homeostasis.<sup>21, 43</sup> La propia presencia física de la microbiota y su capacidad para competir por los recursos (nutrientes, sitios de unión...) participan en este fenómeno.<sup>21</sup>

También es fundamental la producción de sustancias antimicrobianas (bacteriocinas) y la estimulación del huésped a través de productos del metabolismo microbiano para que produzca compuestos antimicrobianos (AMPs como defensinas, catelicidinas y lecitina de tipo C). Un ejemplo sería el ácido láctico generado por *Lactobacillus* que además de proporcionar un ambiente inhibitorio para algunas especies bacterianas (provoca una bajada del pH), estimula la producción de lisozima por parte del anfitrión, que actúa alterando el peptidoglicano de la envoltura bacteriana. Otros compuestos como ácidos grasos de cadena corta y ácidos litocólicos también inducen la expresión de catelicidina LL-37, un péptido antimicrobiano al que se considera parte del sistema inmune innato al correlacionarse con la capacidad del hospedador para disparar una defensa efectiva contra la infección. Cabe destacar que las sustancias antimicrobianas tienden a actuar contra grupos bacterianos similares a la bacteria que las produjo, como estrategia para evitar el asentamiento de competidores.<sup>24, 45</sup>

#### ➤ Función moduladora

El tracto gastrointestinal es la superficie más grande que se encuentra en contacto con antígenos externos, por tanto, no debe extrañar que el desarrollo y maduración de la inmunidad de la mucosa sea una de las funciones principales de la flora intestinal.<sup>45</sup>

Las interacciones entre microorganismos, el epitelio y los tejidos linfoides intestinales son necesarias para que el sistema inmune pueda llevar a cabo dos funciones aparentemente contradictorias: por un lado, necesita ser capaz de tolerar a las bacterias comensales beneficiosas y, por otro, necesita controlar el sobrecrecimiento de especies patógenas.<sup>43</sup>

La inmunoglobulina A secretora es fundamental en el cumplimiento de esta función dual. La microbiota, especialmente organismos Gramnegativos como *Bacteroides*, inducen la activación de las células dendríticas que, a su vez, activan a las células plasmáticas (en las placas de Peyer y la lámina propia) para que produzcan IgA secretora, preferentemente sIgA2 (que es más resistente a la degradación de proteasas bacterianas), que favorece la activación de linfocitos T que segregan citoquinas antiinflamatorias. A su vez, las células dendríticas también inducen la diferenciación de los linfocitos T en Th2 y Treg. Todos estos mecanismos promueven un ambiente más tolerogénico.<sup>5, 9, 14, 43, 45</sup>

Un ejemplo que demuestra la importancia de la microbiota en el desarrollo del sistema inmunitario se puede ver en animales criados en condiciones de asepsia, que muestran una baja concentración de células linfoides en la mucosa del intestino delgado, malformaciones en el bazo y en los ganglios linfáticos, hipoplasia en placas de Peyer, una estructura de los folículos linfoides atrofiada, reducción del número de células plasmáticas productoras de IgA y una concentración de inmunoglobulinas circulantes baja. Estas características cambian inmediatamente después de la exposición a una flora normal.<sup>5, 21, 45</sup>

Además, la microbiota también es capaz de modular el sistema nervioso central. Se cree que puede estar implicada en el desarrollo del eje HPA (eje hipotalámico-hipofisario-adrenal), así como en trastornos del estado de ánimo y desórdenes alimenticios.<sup>45</sup>

#### ➤ Función de mantenimiento

La microbiota influye en la estructura anatómica y fisiológica del intestino, incluso podrían modular la expresión de genes relacionados con las funciones intestinales.<sup>11</sup>

Concretamente, la flora aumenta la superficie del intestino, promueve la renovación de las células de las vellosidades e interviene en la transcripción de factores implicados en la función del sistema nervioso entérico y, por tanto, modula el desarrollo de los movimientos peristálticos. También induce la transcripción de angiogenina 3, una proteína con actividad angiogénica que favorece el desarrollo de la microvasculatura mesentérica. Todo esto permite una correcta digestión y absorción de nutrientes.<sup>24, 45</sup>

Además, *Bacteroides thetaiotaomicron* y *Lactobacillus* contribuyen al mantenimiento de las uniones estrechas y los desmosomas, favoreciendo de esta manera la integridad del epitelio intestinal.<sup>45</sup>

### **3.6. Alteraciones de la microbiota intestinal**

Una vez que la microbiota se desarrolla, alcanza un equilibrio dinámico y es menos sensible a modificaciones. Sin embargo, existen muchos factores externos e internos que pueden conducir a la disbiosis intestinal, relacionada con multitud de enfermedades.

Entre estos factores destacan los hábitos, como el consumo de alcohol o tabaco, el consumo de agua clorada, el estrés o la dieta. Se ha demostrado que la ingesta de grasas animales y de alimentos procesados es perjudicial para nuestra microbiota y aumenta el riesgo de padecer algunas enfermedades (como cáncer de colon), mientras que una alimentación rica en fruta, verdura, cereales integrales, pescado y calcio, se asocia a una disminución de dicho riesgo.<sup>21,43</sup>

También modifica la homeostasis intestinal el uso excesivo de antibióticos, antiinflamatorios, laxantes, antiácidos y los tratamientos como radio y quimioterapia.<sup>3,43</sup>

Otro factor exógeno que afecta a nuestra microbiota es la contaminación ambiental o las infecciones víricas o bacterianas.<sup>11</sup>

Además, la microbiota también puede ser modificada por factores endógenos como la edad, la genética, el pH intestinal, el estado de salud o el estado inmune del huésped.<sup>11</sup>

La enfermedad de Crohn, la colitis ulcerosa, el cáncer, los trastornos de ansiedad o por déficit de atención son solo algunos ejemplos de enfermedades relacionadas con el desequilibrio bacteriano.<sup>11,21</sup>

## **4. METODOLOGÍA**

Para la ejecución de este Trabajo Fin de Grado de tipo bibliográfico se han empleado recursos obtenidos a partir de libros, páginas web y artículos científicos localizados a través de diferentes fuentes en Google Académico, Pubmed, Science Direct y Springer Link. Las principales palabras claves utilizadas: gut microbiota, gut-brain axis, depression, anxiety, probiotics, prebiotics, serotonin, faecal transplant.

## **5. RESULTADOS**

Cuando se rompe la homeostasis de la microbiota intestinal pueden producirse cambios que afectan a múltiples órganos del huésped, haciendo que el individuo pase de un estado de salud a la enfermedad. Son muchas las patologías que han sido vinculadas a la disbiosis de la flora intestinal, como enfermedades metabólicas (obesidad, diabetes mellitus...), enfermedades alérgicas o autoinmunes, enfermedades intestinales y enfermedades neuropsiquiátricas (esquizofrenia, autismo, ansiedad, trastornos depresivos...). Pero, sin duda, la relación entre los desórdenes psicológicos y las alteraciones microbianas es la que más interés ha despertado en la comunidad científica en los últimos años.<sup>15</sup>

La depresión es un trastorno mental caracterizado por sentimientos de tristeza, falta de concentración, anhedonia (incapacidad para disfrutar), dificultad para dormir, falta de autoestima, cansancio, alteración del apetito, agitación o retardo psicomotor, incluso, en los casos más graves, puede ir acompañado de ideas suicidas. Actualmente la padecen 300 millones de personas y cada año mueren 2,74 millones de personas por depresión.<sup>49</sup>

La ansiedad patológica, con una prevalencia de 260 millones de personas, es la respuesta exagerada a un estímulo estresante tanto en duración como en intensidad. Es común en este trastorno: hiperventilación, taquicardia, insomnio, dolores musculares, cambios conductuales y pensamientos negativos o irracionales.

Estos dos trastornos son diferentes pero es muy frecuente su aparición conjunta y son las principales causas incapacitantes del mundo. Además, las mujeres tienen el doble de posibilidades de padecer alguna de ellas.<sup>17, 27, 30</sup>

### **5.1. Disbiosis y alteraciones del estado de ánimo**

A lo largo de los últimos años se han realizado múltiples análisis preclínicos utilizando modelos animales que han evidenciado la estrecha relación entre la microbiota intestinal y el desarrollo y funciones cerebrales.

En ratones GF (del inglés “Germ Free”), se han observado cambios en genes implicados en la mielinización, en la síntesis y transporte de neurotransmisores, en la plasticidad y en la expresión de BDNF (del inglés “Brain-Derived Neurotrophic Factor”) que es uno de los factores más importantes

implicados en la memoria.<sup>7, 26</sup> Todos estos cambios son debidos a la modulación de procesos epigenéticos en la que está implicada la microbiota.<sup>8</sup> Además, en estos animales también se encuentran comportamientos sociales alterados que concuerdan con los cambios neuroquímicos observados en sus cerebros. También aparecen otras alteraciones por la ausencia de flora intestinal, como daño en la respuesta inmune de la microglía, cambios en la permeabilidad de la barrera hematoencefálica y funciones sensoriales motoras del intestino alteradas.<sup>7, 22, 30</sup>

La disbiosis también puede ser inducida por administración de antimicrobianos, bien en periodo perinatal, o bien durante el embarazo o durante la lactancia. En ambos casos, los resultados de la alteración de la composición de la microbiota son cambios en el desarrollo cerebral y neuroconductuales en el neonato, que pueden perdurar en la edad adulta. Además, el tratamiento con antibióticos ha sido relacionado con un aumento del riesgo de padecer trastornos del neurodesarrollo, incluyendo ansiedad y depresión.<sup>27, 30, 41</sup>

De una manera similar, las infecciones por patógenos alimentarios como *Campylobacter jejuni* o la separación materna también inducen cambios en la neuroquímica cerebral (aumento de corticosteroides) que conllevan un aumento de los comportamientos similares a la ansiedad.<sup>13, 15, 17</sup>

Pero sin duda, la vía más directa para estudiar el vínculo entre la disbiosis y la depresión ha sido mediante el trasplante de microbiota fecal de individuos deprimidos a ratones sin microflora intestinal. A través de este tipo de ensayos preclínicos se ha observado que al transferir dicha microbiota aparecían los rasgos fisiológicos y los cambios conductuales característicos de la depresión y la ansiedad en los ratones que recibieron la microbiota del donador (Figura 3). Esto sugiere que la microbiota es responsable de los cambios observados.<sup>8, 49</sup>

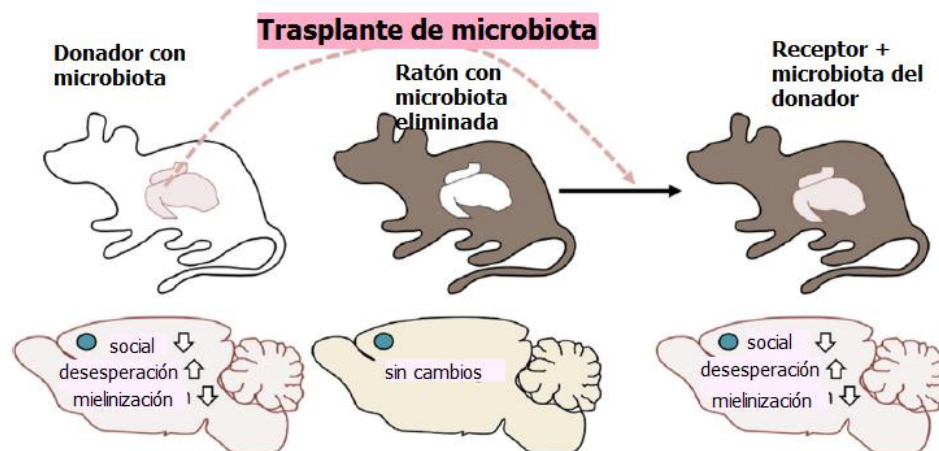


Figura 3. Cambios conductuales y estructurales provocados por el trasplante de microbiota

Tomado de Kuntz, 2016



## 5.2 Eje intestino-cerebro

El intestino es también conocido como “el segundo cerebro” debido a que posee su propio sistema nervioso, el SNE (Sistema Nervioso Entérico), formado por una extensa red neuronal desde el esófago hasta el ano.<sup>17</sup>

Este sistema nervioso junto con el SNC (Sistema Nervioso Central) forman lo que se conoce como “eje intestino-cerebro”, que es una ruta de comunicación bidireccional, es decir, ambos órganos son capaces de enviar y recibir información. De esta forma integra las funciones intestinales y las vincula con los centros cognitivos y emocionales del cerebro. Sin embargo, ante las evidencias que apuntan a un papel de la microbiota en el desarrollo y funciones cerebrales, sería más adecuado denominar a esta ruta como “eje microbiota-intestino-cerebro”.<sup>8, 10, 41</sup>

Debido a que este eje es vital para el mantenimiento de la homeostasis y que su disfunción está implicada en la etiología de muchas enfermedades psiquiátricas, se encuentra regulado a distintos niveles:

- Sistema nervioso: en este nivel participan rutas entéricas, espinal y vagal. Destaca especialmente, esta última, el nervio vago. Su importancia fue demostrada en ensayos preclínicos en los que se trataba con *Bifidobacterium longum* a modelos animales con colitis crónica asociada a comportamiento de ansiedad. Los efectos ansiolíticos de este tratamiento estaban ausentes en ratones vagotomizados.<sup>7, 12</sup>
- Sistema inmune: las bacterias intestinales interactúan con las células inmunes del huésped a través de un receptor de reconocimiento de patrones llamado TLR. Estas células, una vez activadas, liberan citoquinas (proinflamatorias o antiinflamatorias) que, o bien atraviesan la barrera hematoencefálica y altera las funciones de la microglía o bien afectan directamente al eje HHA (eje hipotalámico-hipofisario-adrenal).<sup>13, 15</sup>
- Circulación sistémica: dentro de este nivel de regulación del “eje intestino-cerebro” se incluyen:
  - Péptidos: como neuropéptidos Y, péptido YY o CCK (colecistoquinina) que, además de ser importantes reguladores de la comunicación entre el intestino y el cerebro, están implicados en la regulación de la digestión y la saciedad.<sup>27</sup>
  - Eje HHA: se activa en respuesta al estrés, liberando CRF (factor liberador de corticotropina) desde el hipotálamo, que estimula la liberación de ACTH (hormona adrenocorticotropa) desde la glándula pituitaria que, a su vez, induce la liberación de

glucocorticoides (cortisol en humanos y corticosterona en animales) desde la glándula suprarrenal.<sup>7,8</sup>

- SCFAs: son productos metabólicos bacterianos que pueden estimular al SNC directamente atravesando la barrera hematoencefálica, además de regular la liberación de péptidos y de serotonina y comportarse como reguladores epigenéticos inhibiendo las histonas desacetilasas. También participan en la memoria y en el proceso de aprendizaje.<sup>7, 13, 41</sup>
- Neurotransmisores: son sustancias químicas sintetizadas por la microbiota intestinal a partir de nutrientes ingeridos en la dieta y que influyen en los estados cerebrales: *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* sintetizan GABA (ácido  $\gamma$ -aminobutírico) a partir de glutamato; *Escherichia*, *Bacillus* y *Saccharomyces* liberan noradrenalina; *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* y *Enterococcus* son capaces de producir serotonina a partir de triptófano; *Bacillus* y *Serratia* sintetiza dopamina; *Lactobacillus*, produce acetilcolina.<sup>8, 13, 17</sup>

### 5.3.La serotonina: Generalidades

La serotonina o 5-hidroxitriptamina (5-HT) es una monoamina sintetizada a partir del triptófano, un aminoácido esencial de la dieta, que es convertido en 5-hidroxitriptófano usando la enzima triptófano hidrolasa (Tph) y, a continuación, la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa (AAAD) lo convierte en 5-hidroxitriptamina. La enzima Tph, que es la limitante de velocidad, presenta dos isoformas: la Tph1, localizada en las células enterocromafines, y la Tph2, localizada en neuronas serotoninérgicas del plexo mientérico y de los cuerpos de rafe. Por lo tanto, la serotonina puede ser sintetizada en varias localizaciones diferentes, aunque el 90% es fabricada, almacenada y liberada por las células enterocromafines de la mucosa intestinal. Una vez producida, la serotonina es almacenada en gránulos por el transportador vesicular de monoaminas 1 (VMAT1), y dichos gránulos permanecen cerca del borde basal o apical de las células enterocromafines hasta que se liberan hacia la lámina propia donde puede actuar sobre los receptores de las terminaciones nerviosas o puede ser transportada por las plaquetas para ser distribuida a diferentes partes del cuerpo donde cumple diferentes funciones (Figura 4).<sup>4, 35, 50</sup>

Una vez liberada, además de su papel como neurotransmisor cerebral, la serotonina regula importantes y diversas funciones en otros tejidos periféricos que incluyen reflejos motores,

secreciones entéricas, agregación plaquetaria, hematopoyesis, maduración de ovocitos, desarrollo óseo, cerebral, cardíaco y mamario, vasodilatación, percepción del dolor y broncoconstricción. Pero también regula procesos como el sueño, la agresión, el estado de ánimo y el comportamiento, entre otros. Por lo tanto, la desregulación de la serotonina está implicada en la patogénesis de varias enfermedades tanto gastrointestinales como del sistema nervioso central.<sup>32, 35, 50</sup>

Las acciones de la serotonina terminan cuando se produce su aclaramiento, el cual se lleva a cabo en las células epiteliales, que consiguen internalizar la 5-hidroxitriptamina mediante la ayuda del transportador de recaptación de serotonina (SERT, del inglés “Serotonin Reuptake Transporter”), que también participa en la internalización de 5-HT por las plaquetas. En los enterocitos, la 5-HT se degrada a 5-hidroxiindolacético (5-HIAA) mediante la acción enzimática de la monoaminoxidasa (MAO). Debido a la importante función de SERT en la regulación de la disponibilidad de 5-HT, este transportador es considerado un importante objetivo farmacológico, y por este motivo, los inhibidores selectivos de recaptación de serotonina (SSRI) han sido muy utilizados como antidepresivos.<sup>4, 29, 32</sup>

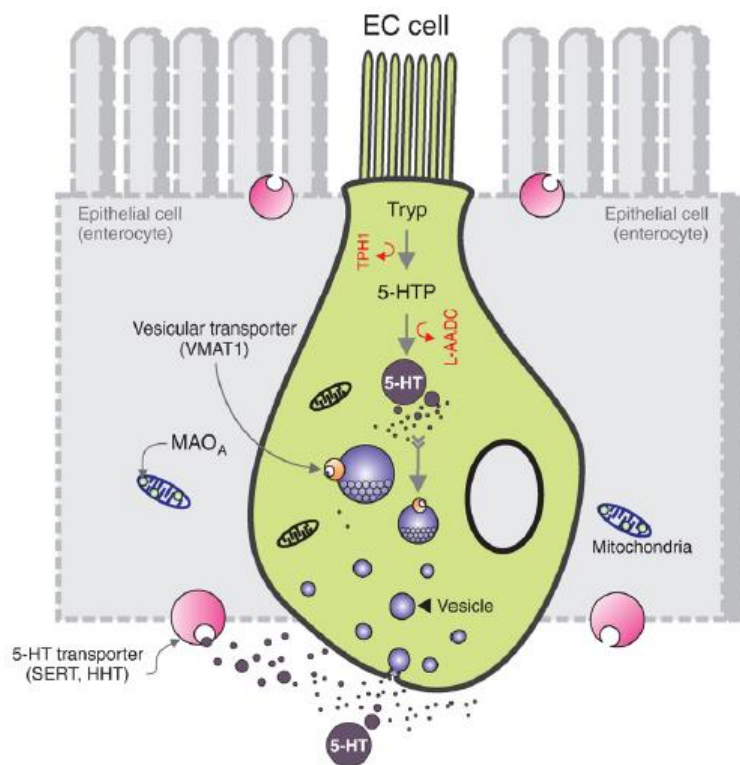


Figura 4. Síntesis y liberación de serotonina

Tomada de Bertrand, 2010

#### 5.4. La influencia de la microbiota sobre la serotonina

Aunque algunas cepas bacterianas específicas de los géneros *Corynebacterium*, *Streptococcus* y *Escherichia coli* tienen la capacidad de sintetizar 5-HT en cultivo, se estima que como mucho el 10% del total de serotonina producida en el tracto gastrointestinal es aportada directamente por la síntesis de la microbiota intestinal. La serotonina restante debe ser sintetizada por las propias células del huésped, como se demostró en ratones mutantes con ausencia de Tph1, que carecían de más del 90% de la 5-HT, lo que indica que el 10% restante es producida bien directamente por la microbiota, o bien por la biosíntesis mediada por Tph2.<sup>50</sup>

Por consiguiente, la microbiota regula los niveles de 5-HT fundamentalmente de manera indirecta. Los resultados obtenidos hasta la fecha en diferentes experimentos sugieren que la microbiota favorece la síntesis de serotonina por las células enterocromafines y disminuye su aclaramiento por los enterocitos.

- Inducción de la síntesis de serotonina

El papel de la microbiota en la regulación de los niveles de 5-HT ha sido estudiado en una serie de ensayos preclínicos, evaluando las concentraciones de la hormona en el colon y en el suero. Los resultados han mostrado que los ratones GF (“libres de gérmenes”) poseen concentraciones de 5-HT disminuidas respecto a los ratones control con microbiota normal. Además, para confirmar que este efecto era dependiente de la microbiota se colonizó a los ratones GF con microbiota convencional a edades diferentes y en todos los casos se observaron aumentos en los niveles de 5-HT. Para observar los efectos microbianos sobre el metabolismo de 5-HT también se redujo la microbiota intestinal de los ratones control con diferentes antibióticos a diferentes edades. Como resultado estos ratones mostraron déficit de 5-HT y características fenotípicas similares a los de ratones GF, como un mayor tiempo de tránsito intestinal y coagulación sanguínea alterada (Figura 5).<sup>50</sup>

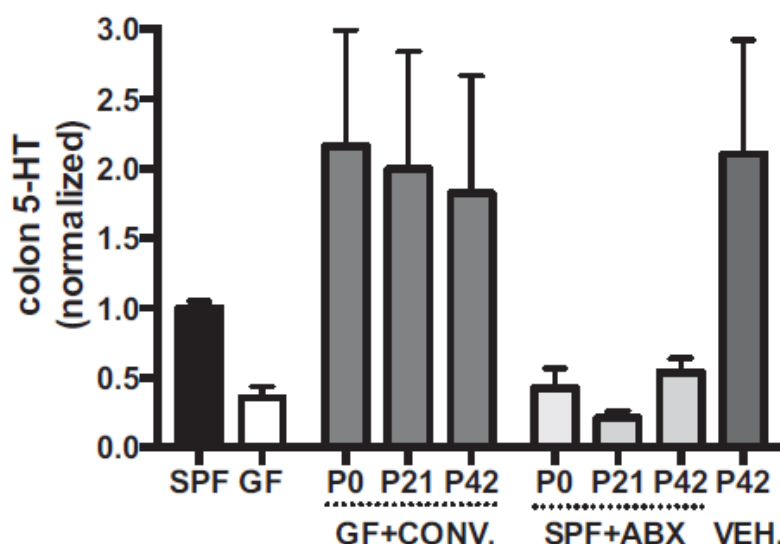


Figura 5. Variaciones de los niveles de serotonina mediadas por la microbiota.

Ordenadas: Niveles de serotonina (5-HT) en el colon.

Abscisas: SPF: ratones con microbiota intestinal

GF: ratones sin microbiota

GF+CONV: ratones sin microbiota colonizados

SPF+ABX: ratones con microbiota tratados con antibióticos

VEH: ratones tratados con agua

P0, P21, P42, hacen referencia a los días postnatales en los que se recogieron las muestras.

Tomado de Yano et al., 2015

Finalmente, evaluando la expresión de genes relacionados con el metabolismo de 5-HT, se observó que los diferentes niveles de serotonina entre ratones con y sin microbiota se deben a la expresión alterada del gen *TPH1* que codifica para la triptófano hidrolasa (Tph1), fundamental en la síntesis de 5-HT. Todo esto indica que la microbiota juega un papel esencial en la inducción de la síntesis de serotonina mediante el aumento de la expresión del gen que codifica para la primera enzima que participa en su síntesis.<sup>50</sup>

Sin embargo, no todas las especies de la microbiota intestinal tienen la capacidad de ejercer este efecto inductor sobre la serotonina (Figura 6). De hecho, la restauración de los niveles de 5-HT y la mejora del fenotipo característico de ratones GF no se observa tras la colonización con *Bacteroides uniformis*, *Bacteroides fragilis* o con la flora alterada de Schaedler (una comunidad formada por ocho microorganismo conocidos por corregir diferentes patologías en el intestino grueso de ratones GF). Pero las mejoras en los niveles de serotonina si fueron visibles cuando estos ratones fueron colonizados con microorganismos formadores de esporas procedentes de la microbiota de ratones SPF (del inglés “Specific-Pathogen-Free”). Dichas mejoras en los niveles de 5-HT también se observaban cuando los microorganismos formadores de esporas eran de origen

humano, lo que indica que la función serotoninérgica de estas especies microbianas esta conservada en ratones y en humanos.<sup>50</sup>

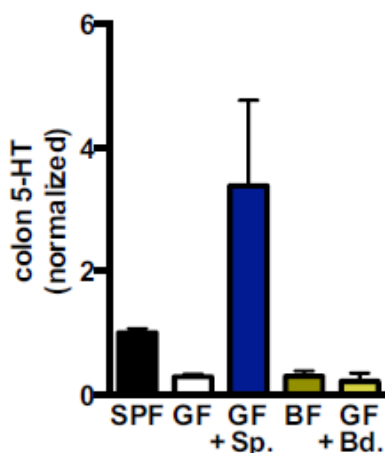


Figura 6. Modificación del nivel de serotonina por colonización

Ordenadas: Nivel de serotonina (5-HT) en el colon

Abscisas: SPF: ratones con microbiota intestinal

GF: ratones sin microbiota

GF+Sp: ratones GF colonizados por bacterias formadoras de esporas

BF: colonización con *Bacteroides fragilis*

GF+Bd: ratones GF colonizados por un consorcio de *Bacteroides*

Tomado de Yano et al., 2015

Además, entre todas las comunidades microbianas que consiguen elevar los niveles de 5-HT se observaron alteraciones metabólicas comunes. El perfil metabolómico confirmó que 83 metabolitos están correlacionados con los niveles de 5-HT, 47 de los cuales, positivamente. De todos ellos se examinaron 16 metabolitos para comprobar si realmente mediaban los efectos de la microbiota sobre 5-HT (Figura 7). Los resultados mostraron que alfa-tocoferol, butirato, colato, deoxicolato, p-aminobenzoato (PABA), propionato y tiramina elevan los niveles de 5-HT en cultivos de células cromafines, que a su vez están relacionados directamente con elevaciones en la expresión de *TPH1*. Estos resultados se reafirmaron cuando se observaron aumentos de las concentraciones de serotonina en ratones GF tras la inyección de alfa-tocoferol, PABA y tiramina. De esta manera, se identificaron los metabolitos que confieren los efectos serotoninérgicos de los microorganismos formadores de esporas.<sup>50</sup>

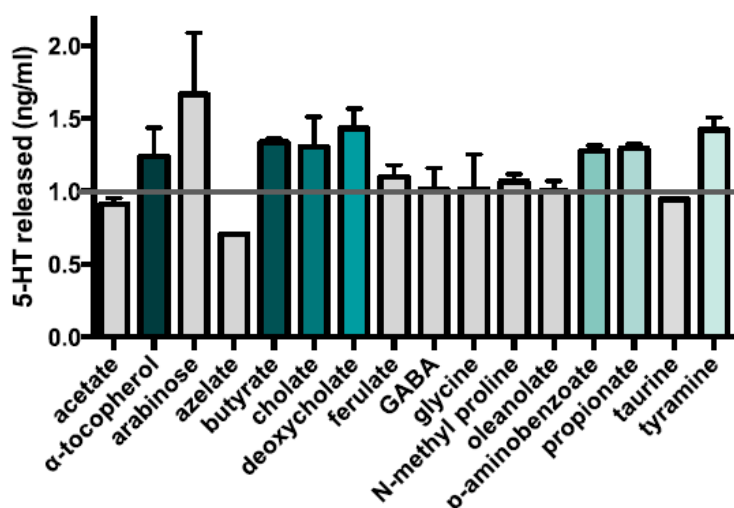


Figura 7. Liberación de serotonina provocada por metabolitos  
 Ordenadas: cantidad de serotonina (5-HT) liberada  
 Abscisas: diferentes metabolitos microbianos añadidos al cultivo celular

Tomado de Yano et al., 2015

En esta línea, el alfa-tocoferol se encontró en concentraciones muy disminuidas en pacientes con depresión. Igualmente, cuando este compuesto fue administrado como tratamiento en modelos preclínicos redujo los comportamientos depresivos. Estas observaciones reafirman que la microbiota intestinal a través de variaciones metabólicas puede alterar la biosíntesis de serotonina del huésped, que a su vez está vinculada con enfermedades neuropsiquiátricas.<sup>50</sup>

#### ▪ Reducción del aclaramiento de serotonina

Los TLRs (del inglés “Toll-Like Receptor”) son unos receptores específicos que se expresan en las células epiteliales que recubren el intestino. Cuando se activan, estos receptores promueven la proliferación epitelial, la secreción de IgA, la expresión de péptidos antimicrobianos y el mantenimiento de uniones estrechas, todas ellas funciones esenciales para el mantenimiento de la homeostasis y de una barrera epitelial sana. Gracias a estos receptores específicos, las células epiteliales son capaces de reconocer MAMPs (del inglés “Microorganism-Associated Molecular Patterns”) presentes en los microorganismos. De esta manera, según la naturaleza de los microorganismos que activan estos TLRs, esto es, que sean comensales o patógenos, se pueden generar respuestas para tolerar o para eliminar a los microorganismos.<sup>2</sup>

A pesar de que el papel de los TLRs en el epitelio intestinal es claramente beneficioso, la disregulación de su actividad conduce a una inflamación incontrolada que puede desencadenar enfermedades tales como colitis ulcerosa o enfermedad de Crohn.<sup>2</sup>

Los TLRs, aparte de tener un importante papel en la inmunidad innata, también están implicados en la regulación del sistema serotoninérgico intestinal. Concretamente, la activación de los TLRs por parte de la microbiota está relacionada inversamente con la concentración del transportador SERT, que se encarga de la recaptación de la serotonina en los enterocitos para su posterior degradación. Por lo tanto, los TLRs son determinantes en la disponibilidad de 5-HT.<sup>29</sup>

Para analizar el efecto de los TLRs en la actividad de SERT se llevaron a cabo experimentos preclínicos en los que se utilizaron cultivos de células Caco-2/TC7 (Figura 8). Las células fueron tratadas con varios ligandos, a diferentes concentraciones y distinto tiempo, para activar los receptores TLRs y luego se midieron los niveles de 5-HT y la expresión de SERT. Los resultados mostraron una reducción en la expresión de ARNm y un menor nivel de proteínas del transportador SERT en la membrana plasmática, que conducían a un incremento detectable en la disponibilidad de 5-HT extracelular. A su vez, este aumento de 5-HT puede desencadenar un efecto de retroalimentación en la expresión de TLRs. Sin embargo, los niveles de ARNm y de proteínas de TLRs solo aumentaron cuando la serotonina se encontraba en niveles fisiológicos, mientras que si las concentraciones de 5-HT eran las características de condiciones inflamatorias no se observaba dicha retroalimentación.<sup>29</sup>

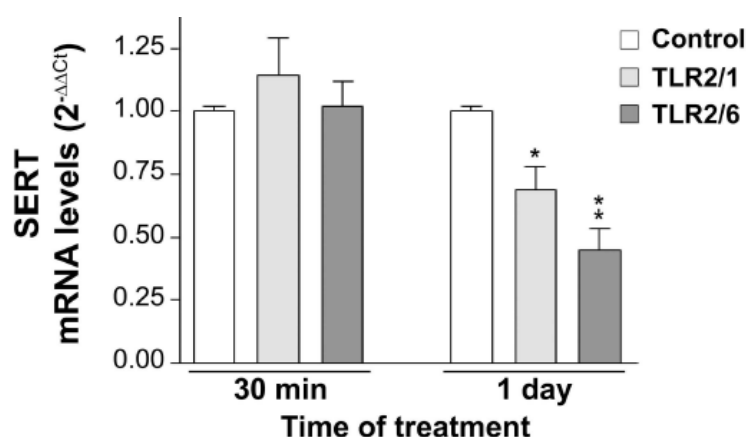


Figura 8. Cambios en la expresión del ARNm de SERT por la activación de TLRs  
 Ordenadas: niveles de ARNm del trasportador SERT  
 Abscisas: tiempo de tratamiento con los ligandos para activar los TLRs

Tomado de Latorre et al., 2016



Adicionalmente, se realizaron experimentos *in vivo* con ratones Tlr<sup>-/-</sup> (cepas de ratones deficientes en los receptores TLR), los cuales mostraban niveles significativamente mayores de ARNm y de proteínas de SERT en el tracto gastrointestinal en comparación con los ratones silvestres Tlr<sup>+/+</sup>. Este resultado corrobora los obtenidos anteriormente en experimentos *in vitro*, que apuntan a que la activación de los TLRs, mediante la microbiota, inhibe la actividad de las proteínas SERT (Figura 9).<sup>29</sup>

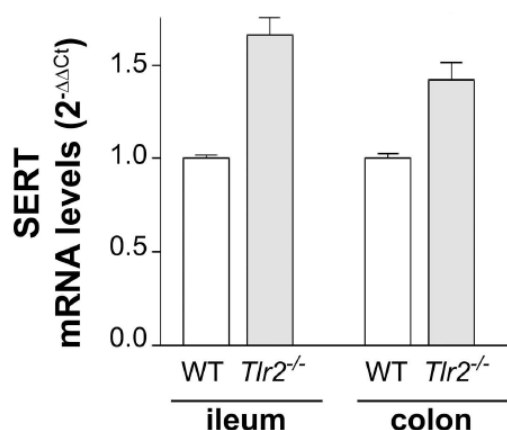


Figura 9. Cambios en la expresión de SERT en ratones mutados  
 Ordenadas: niveles de ARNm del transportador SERT  
 Abscisas: WT: ratón de tipo silvestre  
 Tlr2<sup>-/-</sup>: ratones mutados con deficiencia de receptores TLRs

Tomado de Latorre et al., 2016

### 5.5. Perspectivas terapéuticas

Actualmente existe una amplia variedad de terapias farmacológicas para trastornos mentales relacionados con el estrés como depresión o ansiedad con efectos serotoninérgicos o catecolaminérgicos, es decir, estos fármacos favorecen la transmisión monoaminérgica. Destacan principalmente dos tipos: los inhibidores selectivos de recaptación de serotonina (SSRI) como Fluoxetina o Citalopram, y los antidepresivos tricíclicos (ATC) como Desipramina, Imipramina o Amitriptilina.<sup>23, 35</sup> Estos antidepresivos tienen dos inconvenientes importantes, por un lado, suelen presentar multitud de efectos secundarios y, por otro, algunos pacientes presentan resistencia a dichos tratamientos.<sup>27</sup> Debido a la conocida relación entre la microbiota y la salud mental se está trabajando en el desarrollo de nuevos tratamientos como profilácticos o adyuvantes basados en la modulación de la microbiota intestinal a través de psicobióticos o trasplante fecal.<sup>33</sup>

### 5.5.1 Psicobióticos

Lach (2018) define los psicobióticos como “una intervención exógena que efectúa cambios en la salud mental mediante la modulación del microbioma intestinal” (p.47). Por lo tanto, dentro de esta definición no solo es posible enmarcar a los probióticos, como se solía hacer antes, sino que además se pueden incluir los prebióticos y la dieta.<sup>27</sup>

#### ▪ **Probióticos**

Actualmente el término probiótico hace referencia “a un preparado o a un producto que contiene cepas de microorganismos viables en cantidad suficiente como para alterar la microflora en algún compartimento del huésped (por implantación o colonización) y que produce efectos beneficiosos en dicho huésped”. La definición incluye tanto productos que contienen microorganismos (por ejemplo, leches fermentadas) como un preparado de microorganismos (por ejemplo, comprimidos o polvos).<sup>36</sup>

De todos los microorganismos probióticos solo algunas cepas tienen la capacidad de modular el comportamiento y el estado de ánimo del huésped, como se ha demostrado en diferentes ensayos clínicos y preclínicos en los últimos años.<sup>44</sup>

En ratones, la administración de *Bifidobacterium infantis* atenuó la depresión previamente provocada por el estrés de la separación materna. Además de los cambios conductuales, en otros experimentos se observó que suprime el aumento de las citoquinas proinflamatorias, como TNF- $\alpha$ , IL-6 e IFN- $\gamma$ , y disminuye el recambio serotoninérgico.<sup>10, 44</sup> Estos efectos ansiolíticos también se observaron tras el tratamiento de animales con cepas de *Bifidobacterium longum* y *Bifidobacterium breve*.<sup>1, 8, 27</sup> En ensayos similares también se vio como *Lactobacillus reuteri* disminuye la ansiedad en ratones estresados mediante la reducción de corticosterona y la alteración de la expresión de los receptores del neurotransmisor GABA.<sup>1, 33</sup> Otro estudio muestra cómo se reducen drásticamente los comportamientos de ansiedad tras la administración de ratones con *Mycobacterium vaccae*.<sup>44</sup> Por otro lado, la administración de *Lactobacillus helveticus* fue relacionada con efectos similares al del antidepresivo Citalopram, tales como disminución de corticosterona y corticotropina y aumento de citoquinas antiinflamatorias y de BDNF, noradrenalina y serotonina. Con esta cepa, se observaron incluso mejoras en la memoria.<sup>44</sup> Los resultados fueron similares cuando se alimentó a ratones

adultos con *Lactobacillus rhamnosus*, que presentaban menos comportamientos depresivos y ansiosos.<sup>30, 44</sup>

Cabe destacar, que también se realizaron ensayos preclínicos con combinaciones de las diferentes cepas probióticas anteriores y los resultados obtenidos fueron muy similares. Por ejemplo, la administración de *Lactobacillus rhamnosus* y *Lactobacillus helveticus* disminuye el nivel de corticosterona en ratones previamente estresados.<sup>8, 33</sup> Por otro lado, *Lactobacillus helveticus* y *Bifidobacterium longum* mejoran la resistencia al estrés en roedores sanos y favorecen el mantenimiento de las uniones estrechas, importantes para la integridad de la barrera epitelial.<sup>7</sup> Además, la administración conjunta de *Lactobacillus helveticus*, *Bifidobacterium longum* y *Lactobacillus rhamnosus* redujo las citoquinas proinflamatorias en ratas con estrés previamente inducido por infección.<sup>33</sup>

Más tarde, se realizaron ensayos clínicos que confirmaron los resultados anteriores. Por ejemplo, la administración de leche fermentada con *Bifidobacterium animalis subsp. lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Lactococcus lactis subsp. lactis* en mujeres sanas provocó cambios en la conectividad cerebral en las regiones encargadas de procesar emociones y sensaciones.<sup>12, 44, 48, 51</sup> Otro estudio con *Lactobacillus helveticus* y *Bifidobacterium longum* demostró que estos probióticos disminuyen el cortisol en orina y este, a su vez, reduce el malestar psicológico incluso en individuos sanos; además, estas cepas no mostraron efectos adversos.<sup>12, 17, 33, 44, 48, 51</sup> En otro ensayo en qué se evaluó el efecto de la alimentación con productos lácteos fermentados con *Lactobacillus casei*, su consumo resultó en una disminución notable de la ansiedad y en un aumento de los niveles de serotonina, incluso cuando se administró a voluntarios sanos.<sup>17, 27, 33, 44, 48</sup> Por otro lado, las mujeres embarazadas que consumieron *Lactobacillus rhamnosus* presentaban menor depresión postparto.<sup>13</sup> Además, después de la suplementación con *Lactobacillus plantarum* aumentaron los niveles de serotonina y dopamina y se redujeron los de cortisol y la inflamación.<sup>1</sup> Se obtuvieron resultados igualmente positivos con *Lactobacillus gasseri*.<sup>44</sup> Por último, los síntomas depresivos también disminuyeron con la administración conjunta de *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus salivarius* y *Lactococcus lactis*.<sup>27</sup>

## ▪ Prebióticos

Los prebióticos se definen como “ingredientes de los alimentos no digeribles que producen efectos beneficiosos sobre el huésped estimulando selectivamente el crecimiento y/o actividad de un tipo o de un número limitado de bacterias en el colon”.<sup>36</sup>

Los principales prebióticos son la inulina, la lactulosa, los fructo-oligosacáridos y los galacto-oligosacáridos.<sup>11</sup> Concretamente, se han estudiado los efectos fisiológicos y sobre el estado anímico de estos dos últimos prebióticos.

En los ensayos preclínicos se examinaron los efectos de la administración de galacto-oligosacáridos, concretamente B-GOS, y fructo-oligosacáridos (FOS) en ratas. Ambos prebióticos aumentaron la expresión de BDNF y de las subunidades del receptor NMDA (N-metil-D-aspartato), fundamentales en el mantenimiento de la plasticidad cerebral y en la memoria. A pesar de que ambos promueven el crecimiento de Bifidobacterias y Lactobacilos, FOS es menos efectivo.<sup>44</sup>

De la misma forma, se evaluaron los efectos de estos mismos prebióticos en humanos sanos. Los resultados mostraron que GOS estimula el crecimiento de Bifidobacterias, disminuye los niveles de cortisol al despertar y disminuye la atención hacia estímulos negativos a la vez que la aumenta hacia los positivos. Además, la administración de trans-galactooligosacáridos redujo los niveles de ansiedad. Sin embargo, los resultados no fueron tan esperanzadores con FOS.<sup>13</sup>

## ▪ Dieta

Los diferentes tipos de dietas según su calidad nutricional pueden afectar positiva o negativamente a la microbiota intestinal y por lo tanto al estado de ánimo. Por ejemplo, la dieta mediterránea, en la que abundan la fruta, la verdura, los cereales y el pescado, está relacionada con una disminución del riesgo de padecer depresión. De manera similar se demostró en ratas que una dieta baja en calorías favorecía la diversidad de la flora intestinal que, a su vez, mejoraba la neurogénesis y los niveles de BDNF, relacionados con las capacidades cognitivas. Por el contrario, una alimentación basada en azúcares refinados, carnes rojas y alimentos procesados o altos en grasas consigue disminuir la diversidad de la microbiota intestinal y aumenta la incidencia de una amplia variedad de enfermedades como obesidad, patologías cardiovasculares, trastornos inflamatorios o depresión.<sup>13</sup>

Entre los compuestos químicos de la dieta que están implicados en los efectos beneficiosos sobre el estado de ánimo destacan la fibra, los polifenoles y los ácidos grasos omega-3. En el caso de las fibras alimentarias, en diferentes estudios se han relacionado directamente con la disminución de la probabilidad de padecer depresión.<sup>13</sup> Por otro lado, el resveratrol, un polifenol presente en el vino, disminuye los niveles de corticosterona y citoquinas proinflamatorias y mejora el comportamiento depresivo en animales y, además, tiene propiedades antioxidantes.<sup>13</sup> Otro tipo de polifenol, la curcumina, también reduce el cortisol en pacientes con depresión y mejora la diversidad de la microbiota intestinal.<sup>13</sup> En el caso de los ácidos grasos de omega-3, los ensayos clínicos realizados han utilizado el ácido eicosapentaenoico (EPA) y el ácido docosahexaenoico (DHA) en pacientes con depresión con resistencia a los tratamientos tradicionales, y solo el uso de EPA aumentó la eficacia del tratamiento antidepresivo y en el caso de la administración conjunta de ambos ácidos grasos solo los suplementos que poseían más de un 60% de EPA fueron efectivos, a pesar de que DHA es mucho más abundante que EPA en el cerebro.<sup>13, 20</sup>

Dicho esto, una mejora o modificación de la dieta de pacientes que sufren alteraciones del estado de ánimo podría utilizarse como adyuvante junto a los tratamientos habituales.

### 5.5.2 Trasplante fecal

Se define como “la introducción de una suspensión de materia fecal de un donante sano (debidamente procesada y preparada) en el tracto gastrointestinal de otra persona, generalmente un paciente que presenta una patología concreta, con el fin de manipular la composición de la microbiota del destinatario y por lo general contribuir al tratamiento de su problema”.<sup>18</sup>

Sin embargo, aunque es una técnica de manipulación de la microbiota intestinal poco utilizada en la actualidad, los pocos estudios que hay al respecto en ratones demuestran que puede provocar cambios neuroquímicos en el cerebro y transferir rasgos conductuales y que por lo tanto, podría ser útil en futuros tratamientos para trastornos psiquiátricos como depresión o ansiedad.<sup>8, 33</sup>

Hasta el momento, ha sido utilizado como terapia en pacientes con infecciones recurrentes de *Clostridium difficile*. Tras la colonización intestinal del receptor con la microbiota del donador se observaron cambios en la composición y diversidad de la flora intestinal del paciente a la vez que se mejoraban los síntomas asociados a la infección.<sup>49</sup>

Este tipo de tratamiento también resulta prometedor frente a síndromes metabólicos. Por ejemplo, en humanos, el trasplante desde donantes sanos mejoró la composición microbiana y, paralelamente, mejoró la sensibilidad a la insulina.<sup>47</sup> Por otro lado, en ratones se ha demostrado la posibilidad de transmitir la obesidad desde un donante humano obeso hasta un ratón GF receptor.<sup>47</sup>

## 6. CONCLUSIONES

A medida que se han ido estudiando las funciones de la microbiota intestinal y se ha descubierto su implicación en la salud del huésped, las alteraciones en su diversidad han sido relacionadas con la etiología de cada vez más enfermedades, desde gastrointestinales hasta psiquiátricas pasando por patologías metabólicas.

Debido al aumento de las enfermedades psiquiátricas en los últimos años, estas se han convertido en uno de los principales objetos de estudios de la comunidad científica, por lo que en las últimas décadas numerosos ensayos clínicos y preclínicos han permitido confirmar la existencia de la comunicación bidireccional entre el SNE y el SNC mediante el eje intestino-cerebro. Debido a su importancia en el mantenimiento de la homeostasis está regulado mediante el nervio vago, el sistema inmune y la circulación sistémica, que incluye péptidos, hormonas del eje HHA, SCFAs y neurotransmisores. Por lo tanto, la microbiota tiene la capacidad de modular la neuroquímica cerebral y paralelamente, el comportamiento del huésped utilizando diferentes mecanismos.

Una de las vías de actuación de la microbiota sobre el cerebro más importante y conocida es mediante la modulación de la concentración de neurotransmisores, especialmente de serotonina. Sin embargo, la microbiota influye sobre el sistema serotoninérgico de forma indirecta ya que la serotonina es mayoritariamente producida en células del huésped. Por un lado, algunas cepas bacterianas elevan los niveles de serotonina disponible aumentando su síntesis mediante la secreción de metabolitos que inducen el aumento de la expresión del gen *TPHI* que codifica para la primera enzima que participa en la síntesis del neurotransmisor. Además, la microbiota aumenta los niveles de serotonina circulante al activar los TLRs que, a su vez, impiden que los transportadores SERT internalicen la serotonina para degradarla en los enterocitos.

Esta relación entre la microbiota intestinal y la salud mental, apunta a que la modificación de la composición bacteriana podría utilizarse como tratamiento adyuvante junto a las terapias convencionales en enfermedades como ansiedad o depresión. Los tratamientos más estudiados hasta

el momento son los psicobióticos que incluyen probióticos, prebióticos y modificaciones de la dieta, y los trasplantes fecales. A pesar de los buenos resultados que se están obteniendo en los ensayos, todavía es necesaria una investigación más profunda sobre la composición de la microbiota intestinal y sobre los efectos y duración de las nuevas estrategias terapéuticas.

## 7. BIBLIOGRAFÍA

- 1- Abhari, K., Hosseini, H. (2018). Psychobiotics: next generation treatment for mental disorders. *Journal of Clinical Nutrition and Dietetics*, 4(1), 1-2.
- 2- Abreu, M.T. (2010). Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function. *Nature Reviews Immunology*, 10(2), 131-143.
- 3- Almeida, L.B., Marinho, C.B., Souza, C.S., Cheib, V.B.P. (2009). Disbiose intestinal. *Revista Brasileira de Nutrição Clínica*, 24(1), 58-65.
- 4- Bertrand, P.P., Bertrand, R.L. (2010). Serotonin release and uptake in the gastrointestinal tract. *Anatomic Neuroscience: Basic and Clinical*, 153, 47-57.
- 5- Borruel, N. (2003). Interacciones bacterianas con el sistema inmunológico intestinal: Inmunomodulación. *Gastroenterología y Hepatología*, 26(1), 13-22.
- 6- Brunser, O. Hidratos de carbono complejos de la leche materna: los oligosacáridos. (2019). *Revista Chilena de Nutrición*, 46(5), 626-632.
- 7- Carabotti, M., Scirocco, A., Maselli, M.A., Severi, C. (2015). The gut-brain axis: interactions between enteric microbiota, central and enteric nervous systems. *Annals of Gastroenterology: quarterly publication of the Hellenic Society of Gastroenterology*, 28(2), 203-209.
- 8- Cenit, M.C., Sanz, Y., Codoñer-Franch, P. (2017). Influence of gut microbiota on neuropsychiatric disorders. *World Journal of Gastroenterology*, 23(30), 5486-5498.
- 9- Clemente, J.C., Ursell, L.K., Parfrey, L.W., Knight, R. (2012). The impact of the gut microbiota on human health: an integrative view. *Cell*, 148(6), 1258-1270.
- 10- Cryan, J.F., & O'Mahony, S.M. (2011). The microbiome-gut-brain axis: from bowel to behavior. *Neurogastroenterology and Motility*, 23(3), 187-192.
- 11- Delgado, S. (2005). Microbiota intestinal humana: análisis y evolución de poblaciones representativas e identificación de bacterias probióticas. Tesis doctoral (IPLA-CSIC). Universidad de Oviedo.
- 12- Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2013). Melancholic microbes: a link between gut microbiota and depression ?. *Neurogastroenterology and Motility*, 25(9), 713-719.
- 13- Dinan, T.G., Stanton, C., Long-Smith, C., Kennedy, P., Cryan, J.F., Cowan, C.S., Cenit, M.C., van der Kamp, J.W., Sanz, Y. (2018). Feeding melancholic microbes: MyNewGut recommendations on diet and mood. *Clinical Nutrition*, 38(5), 1995-2001.
- 14- Domingo, J.J.S., Sánchez, C.S. (2018). De la flora intestinal al microbioma. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 110(1), 51-56.

- 15- Evrensel, A., Ceylan, M.E. (2015). The gut-brain axis: the missing link in depression. *Clinical Psychopharmacology and Neuroscience*, 13(3), 239-244.
- 16- Fanaro, S., Chierici, R., Guerrini, P., Vigi, V. (2003). Intestinal microflora in early infancy: composition and development. *Acta Paediatrica*, 92, 48-55.
- 17- Foster, J. A., Neufeld, K.A.M. (2013). Gut-brain axis: how the microbiome influences anxiety and depression. *Trends in Neurosciences*, 36(5), 305-312.
- 18- García García de Paredes, A., Rodríguez de Santiago, E., Aguilera Castro, L., Ferre Aracil, C., López Sanromán, A. (2015). Trasplante de microbiota fecal. *Gastroenterología y Hepatología*, 38(3), 123-134.
- 19- Grönlund, M.M., Lehtonen, O.P., Eerola, E., Kero, P. (1999). Fecal microflora in healthy infants born by different methods of delivery: permanent changes in intestinal flora after cesarean delivery. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 28(1), 19-25.
- 20- Grosso, G., Pajak, A., Marventano, S., Castellano, S., Galvano, F., Bucolo, C., Drago, F., Caraci, F. (2014). Role of omega-3 fatty acids in the treatment of depressive disorders: a comprehensive meta-analysis of randomized clinical trials. *PloS One*, 9(5).
- 21- Guarner, F. (2007). Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutrición Hospitalaria* 22, 14-19.
- 22- Hayley, S., Audet, M.C., Anisman, H. (2016). Inflammation and the microbiome: implications for depressive disorders. *Current Opinion in Pharmacology*, 29, 42-46.
- 23- Heerlein, A. (2002). Tratamientos farmacológicos antidepresivos. *Revista Chilena de Neuropsiquiatría*, 40, 21-45.
- 24- Jandhyala, S. M., Talukdar, R., Subramanyam, C., Vuyyuru, H., Sasikala, M., Reddy, D.N. (2015). Role of the normal gut microbiota. *World Journal of Gastroenterology*, 21(29), 8787-8803
- 25- Korecka, A., Arulampalam, V. (2012). The gut microbiome: scourge, sentinel or spectator?. *Journal of Oral Microbiology*, 4(1), 9367.
- 26- Kuntz, T., Gilbert, J. (2016). Microbiome: Does the brain listen to the gut?. *eLife*, 5, e17052.
- 27- Lach, G., Schellekens, H., Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2018). Anxiety, depression, and the microbiome: a role for gut peptides. *Neurotherapeutics*, 15(1), 36-59.
- 28- Laforest-Lapointe, I., Arrieta, M.C. (2018). Microbial eukaryotes: a missing link in gut microbiome studies. *MSystems*, 3(2).
- 29- Latorre, E., Layunta, E., Grasa, L., Castro, M., Pardo, J., Gomollón, F., Alcalde, A.I., Mesonero, J.E. (2016). Intestinal serotonin transporter inhibition by Toll-like receptor 2 activation. A feedback modulation. *PloS One*, 11(12). e0169303.
- 30- Leclercq, S., Mian, F.M., Stanisz, A.M., Bindels, L.B., Cambier, E., Ben-Amram, H., Koren, O. Forsythe, P., Bienenstock, J. (2017). Low-dose penicillin in early life induces long-term changes in murine gut microbiota, brain cytokines and behavior. *Nature Communications*, 8(1), 1-12.
- 31- Mariat, D., Firmesse, O., Levenez, F., Guimaraes, V., Sokol, H., Doré, J., Corthier, G., Furet, J. P. (2009). The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age. *BMC Microbiology*, 9(1), 123.
- 32- Mawe, G.M., Hoffman, J.M. (2013). Serotonin signaling in the gastrointestinal tract. *Nat. Rev. Gastroenterology and Hepatology* 10 (8): 473-486.



- 33- Messaoudi, M., Violle, N., Bisson, J.F., Desor, D., Javelot, H., Rougeot, C. (2011). Beneficial psychological effects of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in healthy human volunteers. *Gut Microbes*, 2(4), 256-261.
- 34- Neufeld, K.M., Kang, N., Bienenstock, J., Foster, J.A. (2011). Reduced anxiety-like behavior and central neurochemical change in germ-free mice. *Neurogastroenterology and Motility*, 23(3), 255-264.
- 35- O'Mahony, S.M., Clarke, G., Borre, Y.E., Dinan, T.G., Cryan, J.F. (2015). Serotonin, tryptophan metabolism and the brain-gut-microbiome axis. *Behavioural Brain Research*, 277, 32-48.
- 36- Oliveira Fuster, G., González-Molero, I. (2007). Probióticos y prebióticos en la práctica clínica. *Nutrición Hospitalaria*, 22, 26-34.
- 37- Ottman, N., Smidt, H., de Vos, W.M., Belzer, C. (2012). The function of our microbiota: who is out there and what do they do?. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2, 104.
- 38- Peláez, C., Requena, T. (2017). *La microbiota intestinal*. Madrid, España: Editorial CSIC
- 39- Rajilić-Stojanović, M., Smidt, H., De Vos, W.M. (2007). Diversity of the human gastrointestinal tract microbiota revisited. *Environmental Microbiology*, 9 (9), 2125-2136.
- 40- Ribera Casado, J.M. (2016). Microbiota intestinal y envejecimiento: ¿un nuevo camino de intervención?. *Revista Española de Geriatria y Gerontología*, 51(5), 290-295.
- 41- Rogers, G.B., Keating, D.J., Young, R.L., Wong, M.L., Licinio, J., Wesselingh, S. (2016). From gut dysbiosis to altered brain function and mental illness: mechanisms and pathways. *Molecular Psychiatry*, 21(6), 738-748.
- 42- Rowland, I., Gibson, G., Heinken, A., Scott, K., Swann, J., Thiele, I., Tuohy, K. (2018). Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. *European Journal of Nutrition*, 57(1), 1-24.
- 43- Salinas de Reigosa, B. (2013). Microbiota intestinal: clave de la salud. *Salus*, 17(2), 5-6.
- 44- Sarkar, A., Lehto, S.M., Harty, S., Dinan, T.G., Cryan, J.F., Burnet, P.W. (2016). Psychobiotics and the manipulation of bacteria–gut–brain signals. *Trends in Neurosciences*, 39(11), 763-781.
- 45- Sekirov, I., Russell, S., Antunes, L., Finlay, B. (2010). Gut microbiota in health and disease. *Physiological Reviews*, 90 (3), 859-904.
- 46- Skonieczna-Żydecka, K., Marlicz, W., Misera, A., Koulaouzidis, A., Łoniewski, I. (2018). Microbiome. The missing link in the gut-brain axis: focus on its role in gastrointestinal and mental health. *Journal of Clinical Medicine*, 7(12), 521-539.
- 47- Udayappan, S.D., Hartstra, A.V., Dallinga-Thie, G.M., Nieuwdorp, M. (2014). Intestinal microbiota and faecal transplantation as treatment modality for insulin resistance and type 2 diabetes mellitus. *Clinical and Experimental Immunology*, 177(1), 24-29.
- 48- Vlainic, J., Suran, J., Vlainic, T., Vukorep, A.L. (2016). Probiotics as an adjuvant therapy in major depressive disorder. *Current Neuropsychopharmacology*, 14(8), 952-958.
- 49- Winter, G., Hart, R.A., Charlesworth, R.P., Sharpley, C.F. (2018). Gut microbiome and depression: what we know and what we need to know. *Reviews in the Neurosciences*, 29(6), 629-643.
- 50- Yano, J.M., Yu, K., Donaldson, G.P., Shastri, G.G., Ann, P., Ma, L., Nagler, C.R., Ismagilov, R.F., Mazmanian, S.K., Hsiao, E.Y. (2015). Indigenous bacteria from the gut microbiota regulate host serotonin biosynthesis. *Cell*, 161(2), 264-276.
- 51- Zhou, L., Foster, J.A. (2015). Psychobiotics and the gut–brain axis: in the pursuit of happiness. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*, 11, 715-723.